ZV0800992

# TEST DE SECURITE ET PUISSANCE DES VACCINS

STAGE FAO SUR LA PRODUCTION DE VACCIN
DAKAR, DU 17 OCTOBRE AU 5 NOVEMBRE 1983

Par VIGIER M.,, FIKRE Y. et LEFORBAN Y.

REF. N°81/VIRO
OCTOBRE 1983.

# TES? DE SECURITE ET PUISSANCE DES VACCINS

Par VIGI ER M.*, FIKRE Y.** et LEFORRAN Y.***

## I NTRODUCT I'ON

Dans les différents exposés, sur les différentes productions de vaccins, les contrôles spéci f iques vous seront exposés. Notre but est de rappeler l es pri ncipes généraux de contrôle des vacci ns et de montrer leur évolution avec les progrès scientifiques. Nous allons insister aussi sur certai nes règles à observer durant la fabrication même des vaccins, règles dont le respect i nf l uera sur la qual i té future des vaccins puis nous envisagerons successivement les tests d'innocuité et les tests d'immunité.

I - Règles de fabrication à respecter
II - Test d'innocuité
III - Test de puissance.

## P L A N

I NTRODUCT I'ON

I - REGLES DE FABRICAT I ON

1 - Contrôle des cellules
   a) Cel lules de première expiantai-ion
   b) Les lignées cel lulaires.

2 - Le contrô l e des oeufs
   (schéma I FFA - CREDO).

3 - Le contrôle des mi l ieux et des adjuvants
   a) Milieux
   b) Adjuvants.

.../...

* National Veterinaty Institute Debré-Zeit (Ethiopie).

** MAISONS-ALFORT (France) Mlssion vétérinai re française en *Ethiopie.

*** Laboratoi re national de l 'Elevage et de Recherches vétéri nai res B.P. 2057 - DAKAR-HANN.

4 - Le contrôle des souches vaccinales

a) Contrôle des passages : souche d'origine, lot de semence, lot de production industriel le

b) Contrôle des souches avant fabrication

c) Contrôle de la souche en cours de fabrication.

II - TEST D'INNOCUITE

1 - Vaccin inactivé

a) Contrôle d'inactivation

b) Contrôle de stérilité

c) Contrôle d'absence de réaction locale

d) Dispositions particulières.

2 - Vaccins vivants

a) Pathogénicité résiduelle

b) Contrôle de l'identité et de la pureté du vaccin

c) Innocuité proprement dii-e.

III - TEST DE PUISSANCE DES VACCINS

A - Test d'immunité sur l'espèce cible

a) Conditions d'épreuve

b) Dose d'épreuve

c) qualité de la souche d'épreuve

d) Date de l'épreuve après vaccination

e) Condition de lecture.

B -Test d'immunité sur espèce autre que l'espèce cible

C - Titrage de l'antigène

1 - Vaccins vivants

2 - Vaccins inactivés

D - Titrage des anticorps

E - Contrôles divers.

CONCLUSION

## I - REGLES DE FABRICATION

Dans la production des vaccins, nous-aurons à utiliser des "matières premières" qui pourront influer sur la qualité future des vaccins, en particulier sur leur toxicité.

Toxicité primaire (transmission de maladies telles que les leucoses, la maladie des muqueuses, oncogénicité, virus lents...). Si certaines "toxicités" peuvent être rapidement diagnostiquées, par exemple la présence de virus adventices tels que la maladie des muqueuses, les contrôles courants ne permettent pas de détecter le pouvoir oncogène de certaines cellules, la présence de virus lents dans le cerveau d'un mouton utilisé pour la production d'un vaccin contre la rage.

Toxicité secondaire : création d'état d'hypersensibilité immédiate ou retardée, par l'utilisation de milieux, d'inactivant, etc... non adaptes. Ces états d'hypersensibilité apparaissent souvent tardivement, après la répétition des vaccinations et c'est au moment de la fabrication des vaccins que les con-t-rôles peuvent être les plus efficaces.

Nous allons donc rappeler quelques règles en ce qui concerne :

1 - le contrôle des cellules
2 - le contrôle des oeufs
3 - le contrôle des milieux - adjuvants
4 - la manipulation des souches vaccinales. Le contrôle de leur antigénicité avant et durant la fabrication des vaccins.

### I - Le contrôle des cellules

Nous pensons qu'un service "cultures cellulaires" est nécessaire dans les laboratoires de production pour le contrôle.

#### a) Les cellules de première explantation

Les cellules de première explantation que nous utilisons sont le plus souvent d'origine ovine ou bovine ; elles présentent moins de danger pour l'homme que les cellules d'origine simienne (voir exposé sur la sécurité au laboratoire), mais on peut toujours craindre la présence de virus adventices ; les virus cytopathogènes sont rapidement mis en évidence

(épreuve de séroneutral isation totale du vaccin), les virus pathogènes bien connus non cytopathogènes (tel les que certaines souches de In maladie des muqueuses) peuvent être mis en évidence assez faci lement (coloration au giemsa, à l 'acridi ne orange , des cet lules témoins non i noculées -'avec la souche vacci na le. ,, ), mais i l n'est pas interdi t de penser que certaines souches de vi rus peuvent ne pas être décelées par de tels tests.

Au loboratoi re de Debré-Zeit, nous avons ajouté aux tests d' innocuité normaux, l'injection I/C à des souris de 0,03 ml de la suspension virale récoltée, pour les vaccins Peste bovine et Clavelée.

Dans le même esprit, nous n'uti lisons pour la production des cel lules rénales que des veaux et 'des agneaux nouveau-nés provenant d'élevages cont rôlés.

De plus, dans le cas des tests d'innocuité pour les vaccins contre la Peste bovi ne, nous uti l isons des veaux sans anticorps contre la Nucosa l disease. Toute apparition d'anticorps contre cette ma tadie montrerait une contamination du vaccin.

b) Les l ignées cet lulaires

Le problème principal qui s'est posé c'est le pouvoi r oncogène de ces cel lules. Pour la production de certains vaccins à usage humain, on uti l ise :

- les lignées cel lulaires diploïdes d'origine humaine : exemple : vaccin contre ta rage. Pour les vaccins à usage vétérinaire, on utilise en dehors des ccl lules de première explantation d'origine animale ;

- les lignées cellulaires diploïdes d'origine animale : exemple : vaccin contre la rage = I nstI tut Pasteur ;

- les lignées cel ulaires non diploïdes d'origine animale. On peut se procurer ces cet lules après que les contrôles aient été faits dans des organismes spéc al lsés de référence (exemple : cel lule Vero pour la Peste bovine). Le nombre des passages doi t être l imité.

../...

Le service "cultures cellulaires" devra donc constituer un stock de cellules en azote liquide pour éviter les passages trop nombreux, Lës tests principaux qui permettent de suivre l'évolution des lignées cellulaires sont :

- l'étude de la morphologie des cellules,
- l'étude des antigènes cellulaires,
- l'étude du métabolisme (ex : besoins en sérum pour la croissance),
- l'étude du profil protéinique de ces cellules,
- l'étude de leur sensibilité vis-à-vis des différents virus,

A ces études s'ajoutent :

- la recherche des copfaminants viraux

. Aucun effet cytopathogène en 10 jours de culture
. Aucun agent hémadsorbant (hématies de poulet, humains $O^+$, et cobayes)
. Aucunes Indusions (giemsa, acridine orange).

Sur : - cellules primaires. rein de veau
- cellules Véro
- cellules BHK

Résultat : - aucun effet cytopathogène
- aucun pouvoir hémadsorbant
- aucune Inclusion.

Il arrive cependant que des lignées cellulaires soient contaminées ; la lignée IBR'S$^2$ est porteuse d'un virus atténué de la peste porcine ; ce virus se retrouve à la fois dans les cellules et dans les milieux de culture.

Recherche d'autres contaminants

- bactériens,
- fongiques
- mycoplasmiques.

Par cultures sur milieux appropriés.

Recherche d'un pouvoir oncogène

Inoculation d'extraits de cellules ou de cellules à des souris ou jeunes hamsters déprimes par la cortisone. Observation 60 jours. On ne doit pas observer de tumeurs.

Inoculation en même temps de cellules tumorales à des témoins déprimés à la cortisone. Observation 60 jours. 50 % des témoins présentent une tumeur.

2 - Le contrôle des oeufs (Schéma IFFA-CREDO, voir annexe).

Animaux arands parentaux élevés sous isolateurs, le bâtiment est en surpression, les isolateurs sont en surpresslon d'un filtre, ces précautions sont complétées par une douche et un sas pour l'introduction du matériel, L'aliment et l'eau de boisson sont autoclavés.

Animaux parentaux : comme les précédents, sont élevés dans un bâtiment dit de sécurité et de développement. Le bâtiment est en surpression d'air filtré, il y a douche et sas de décontamination, l'aliment a été préalablement conditionné sous double enveloppe, l'eau est décontaminée par un préchauffage à 80°C.

Animaux producteurs d'oeufs SPF

Fils et filles de la colonie précédente sont élevés dans des unités plus grandes de 500 sujets., Le bâtiment est en surpression d'air filtré. Il y a aussi douche et sas. Les sacs d'aliments sont sous double enveloppe, l'eau est décontaminée comme précédemment.

Les animaux parentaux et grands-parentaux subissent les contrôles A, les animaux de production **les** contrôles B. Le rythme des contrôles, le nombre d'animaux contrôlés diffèrent selon le type A ou B. Les agents recherchés par contre sont les mêmes. Ces différences existent uniquement pour des raisons économiques. Dans un petit 'laboratoire, on peut élever la première génération sous Isolateur dans une unité en surpression et effectuer les contrôles de type A sur cette seule génération et passer à la production des oeufs SPF à la deuxième génération en effectuant seulement les contrôles de type B (projet de Debré-Zeit).

.../...

ANNEXE



| | MALADIE | TECHNIQUE | SOUCHE | DATE DES CONTROLES 4e semaine | 10e semaine 5 % sujets en surnombre | 20e semaine 100 % sujets | Toutes les 8 semaines 5 % sujets |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sur sérums | ADENOVIROSES | PMG | CELO Phelps | | X | X | X |
| | INFLUENZA (TYPE A) | PMG | Rosteck | | | X | X |
| | M. DE GUMBORO | PMG | 52/70 | | X | X | X |
| | M. DE MAREK | PMG | JM 19 | | X | X | X |
| | REOVIROSES | PMG | S 1133 | | X | X | X |
| | M. DE NEWCASTLE | IHA | La Sota | | X | X | X |
| | EDS 76 | IHA | $V_{127}$ | | | X | X |
| | BRONCHITE INFECT. | EN | Mass | | X | X | X |
| | LARYNGOTRACHEITE | SN | Ploufragan | | | X | X |
| | LEUCOSES A | SN | RSV ($RAV_1$) | | | X | |
| | LEUCOSES B | SN | RSV ($RAV_2$) | | | X | |
| | MYCOPLASMOSE G. | SAL | S 6 | | X | X | X |
| | MYCOPLASMOSE S. | SIU | | | X | X | X |
| | SALMONELLOSES P. | SAL | S + V | | X | X | X |
| Sur œufs | LEUCOSES | COFAL | Groupes (ABCD) | | | | X |
| | ENCEPHALOMYELITE | SE | Van Roeckel | | | | X |
| Fientes | PARASITOSES | Microscopie | – | X | | | |
| | SALMONELLOSES | Bactério. | – | X | | | |
| | VARIOLE | Clinique | – | X | X | X | X |
| | HAEMOPHILUS G. | Clinique | – | X | X | X | X |

TABLEAU Nº 1

CONTROLE DE L'ÉLEVAGE DE POULES SPF TYPE A

| | MALADIE | TECHNIQUE | SOUCHE | DATE DES CONTROLES 4e semaine | 10e semaine 5 % sujets | 20e semaine 5 % sujets | Toutes les 8 semaines 5 % sujets |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sur sérums | ADENOVIROSES | PMG | CELO Phelps | | X | X | X |
| | M. DE GUMBORO | PMG | 52/70 | | X | X | X |
| | M. DE MAREK | PMG | JM 19 | | X | X | X |
| | REOVIROSES | PMG | S 1133 | | X | X | X |
| | M. DE NEWCASTLE | IHA | La Sota | | X | X | X |
| | EDS 76 | IHA | $V_{127}$ | | X | X | X |
| | BRONCHITE INFECT. | SN | Mass | | X | X | X |
| | MYCOPLASMOSE G. | SAL | S 6 | | X | X | X |
| | MYCOPLASMOSE S. | SAL | | | X | X | X |
| | SALMONELLOSES P. | SAL | S + V | | X | X | X |
| Sur œufs | LEUCOSES | COFAL | Groupes (ABCD) | | | | X |
| | ENCEPHALOMYELITE | SE | Van Roeckel | | | | X |
| | DIVERS / CFEP | CT | – | | | | X |
| | DIVERS / CRP | CT | – | | | | X |
| Fientes | PARASITOSES | Microscopie | – | X | | | |
| | SALMONELLOSES | Bactério. | – | X | | | |
| | VARIOLE | Clinique | – | X | X | X | X |
| | HAEMOPHILUS G. | Clinique | – | X | X | X | X |

TABLEAU Nº 2

CONTROLE DE L'ÉLEVAGE DE POULES SPF TYPE B

3 - Contrôle des milieux et des adjuvants

a) Milieux

Dans les milieux, sont utilisées des matières premières pouvant être responsables de phénomènes d'hypersensibilité.

Il semble que les antibiotiques, les sérums hétérologues, les sérums homologues dénaturés par le formol, les anti-mousses, le carboxyméthylcellulose, utilisés dans les cultures en suspension soient responsables des réactions allergiques du type immédiat qui apparaissent entre 1 e-t 8 h. après l'inoculation vaccinale et qui se traduisent par :

. des chocs anaphylactiques mortels le plus souvent par oedème aigue du poumon,

. des chocs anaphylactiques généraux: graves avec manifestations respiratoires, digestives, diverses (oedème au niveau des nasaux, vulve, larmoiement).

. des manifestations locales oedème, urticaire.

Il semble d'autre part que les réactions à type retardé plus sévère soient induites par la protéine virale et d'autres protéines hétérologues, dont les cellules BHK et les sérums, La sensibilisation à la protéine virale apparaît graduellement. En premier lieu, les protéinos hétérologues non virales induisent un état d'hypersensibilité spécifique qui, après des sensibilisations répétées, augmente l'effet inducteur d'autres protéines telles que la protéine virale et autres médicaments.

L'hypersensibilité retardée, révélateur d'un état antérieur de sensibilisation, s'exprime entre le 1 et 21è jour. Les réactions apparaissent graduellement et peuvent se limiter à un eczéma local ou généralisé ou bien devenir une réaction fébrile générale avec un eczéma, oedème ou bien être une encéphalite allergique dans le cas de vaccin préparé 3 partir de tissu nerveux riche en myéline. Contrairement aux manifestations non mortel les d'hypersensibilité immédiate qui rétrocèdent rapidement, l'évolution de l'eczéma est lente : persistance de plusieurs semaines.

.../...

En Ethiopie, nous avons observé des cas très graves d'hypersensibilité immédiate :

- réaction à l'inoculation du vaccin lapiné, chez les vaches laitières de race européenne vaccinées tous les ans contre la peste bovine (réaction probablement due aux protéines du lapin) ;
- réaction avec le vaccin contre la pesteurellose (type B) de même chez les vaches laitières de race européenne, réactions si graves que nous avons arrêté cette vaccination, réactions que nous attribuons à l'antigène pasteurellique lui-même. Cette hypersensibilité des vaches européennes est-elle due à une prédisposition génétique, où à une augmentation non spécifique du pouvoir inducteur de l'antigène pasteurellique par des vaccinations trop fréquentes contre la fièvre aphteuse (3 par an) avec un vaccin préparé sur BHK (ceci a été signalé pour d'autres hypersensibilités) ou enfin à une parenté antigénique entre les lyoprotéinos des cellules BHK et de l'antigène pasteurellique.

En pratique :

- dans toute production, éviter les protéines homologues ethétérologues qui peuvent être des inducteurs spécifiques ou non spécifiques d'hypersensibilité ;
- changer si nécessaire de lignées cellulaires en cas de vaccinations répétées. Centrifuger et éliminer les débris cellulaires. Il semble d'autre part qu'il y ait des différences entre les différent& lignées de cellules BHK dans leur possibilité d'induire un état d'hypersensibilité ; d'où l'intérêt du contrôle de ces lignées du point de vue hypersensibilité ;
- faire des tests d'hypersensibilité : exemple : le vaccin antirabique recherche du pouvoir encéphalitogène (Svet - Mol davski j et Coll - Inoculation d'un culot de vaccin centrifugé avec de l'adjuvant de Freund (la rage, techniques de laboratoire, OMS ).

b) Contrôle des adjuvants

Exemple : - contrôle de la saponine
- pouvoir inflammatoire local (exemple charbon bactéridien)
- pouvoir toxique général recherché sur cobayes. MALKOVCI E et collaborateurs - Préparation du vaccin anti-aphteux.

.../...

4 - Contrôle des souches vaccinales

a) Contrôle des passages

Les souches vaccinales risquent de perdre de leurs qualités par des passages trop nombreux, Le nombre dos passages doit donc être contrôlé.

A partir de la souche d'origine venue d'un autre laboratoire, on peut préparer après un ou plusieurs passages, une récolte importante, cette récolte après mélange sera répartie dans des flacons scellés ; on pourra considérer ce lot comme le futur lot de semence. (Certains laboratoires considèrent ce lot comme souche initiale et font ensuite des lots de semence).

A partir des lots de semence, on fait des lots' de production industrielle. Ceux-ci sont la récolte mélangée obtenue après inoculation d'un matériel biologique par un ou plusieurs flacons de lot de semence. Cette récolte de production industrielle répartie en flacons permettra de produire une série de lots' de vaccins (voir production des vaccins contre la peste bovine et la clavelée, le lot de vaccins étant le contenu du ou des flacons de récolte de la production industrielle mélangé avec le tampon nécessaire, lyophilisé le même jour dans le même lyophilisateur.

b) Contrôle de la souche vaccinale avant la fabrication du vaccin

Exemples :

- Vaccin contre la rage : carte des déterminants antigéniques établie par l'étude des anticorps monoclonaux.
- Vaccin contre la fièvre anhteuso : étude sérologique croisée des sous-types de virus aphteux.

Ces études entrent en cause dans la formulation des vscci ns. L'étude des anticorps monoclonaux a justifié à postériori l'addition de souches indigènes à la souche fixe dans certains vaccins sud-américains.

L'étude des sous types A de virus aphteux isolés en Ethiopie, différents de ceux employés dans les vaccins européens, nous a conduit à produire localement un vaccin utilisant une souche A isolée en Ethiopie.

.../...

c) Contrôle de la souche vaccinale au cours de la fabrication

Exemple :

- Fièvre aphteuse

1 - Titrage des antigènes par la fixation du complément au cours de la culture

2 - Utilisation de l'ultracentrifugation zonale - rappelons que les antigènes aphteux peuvent contenir, essentiellement d'une part, des virus ou "grandes particules" ayant un diamètre de 22 mμ et une constante de sédimentation de 140 S et d'autre part, des capsomères (ou "petites particules") de 7 mμ de diamètre et ayant une constante de sédimentation de 14 S.

Ces particules ont, le. pouvoir de fixer le complément, mais seules les premières les 140 S, qu'elles soient infectieuses ou non, possèdent le pouvoir immunogène. Cette ultracentrifugationséparant les particules 140 S, suivie d'un titrage par la fixation du complément a permis une meilleure connaissance de la qualité immunogène des antigènes aphteux.

II"- TEST D'INNOCUITE

L'innocuité et l'activité sont les deux qualités Sondamentales que tout vaccin doit posséder.

Nous allons étudier :

1°) les caractères d'innocuité se rapportant aux vaccins' inactivés
2°) les caractères d'innocuité des vaccins. vivants.

1°) Les caractères d'innocuité se rapportant aux vaccins inactivés

a) Contrôle de l'inactivation

- Les vaccins bactériens

Le contrôle de cette inactivation est relativement facile en utilisant des milieux de cultures aérobie ou anaérobie appropriés. Remarquons au passage que la quantité d'inactivant à utiliser varie avec les germes en

.../...

cause 3 ‰ de formol est une quantité suffisante pour inactiver les pasteurelles, les salmonelles. Pour les pasteurelles, cette quantité de formol ne peu-t être augmentée au dblà de 4 ‰ sans nuire à l'antigénicité du vaccin, 5 ‰ de formol est nécessaire pour l'inactivation de la, culture de Cl. chauvei, Dans le cas du vaccin contre le charbon symptomatique, on a signalé des accidents de vaccination par inactivation incomplète de spores. L'inactivation des cultures à 37°C et avec 5 ‰ de formol doit durer au moins 5 jours. Le test d'innocuité sur cobayes devra durer au moins 15 jours.

- Les vaccins viraux

L'inactivation du virus doit être vérifiée avec des techniques fiables.

Exemple la rage : on admettait chez les anciens vaccins phénolés une virulence résiduelle que l'on titrait sur souris. Avec les vaccins inactivés par la propriciactone, on élimine toute virulence résiduelle. Actuellement la sensibilité du test d'inactivation est accrue par l'emploi de la concentration du virus ou l'emploi de système sensible (cellules + DEAE par exemple).

Fièvre aphteuse

Des cas de fièvre aphteuse post-vaccinale ont conduit à la mise en oeuvre d'une technique de contrôle basée sur l'élution et la concentration du virus, suivies de son ensemencement sur cultures cellulaires sensibles, l'inoculation intradermolinguale des vaccins à des bovins sensibles, ne permettent pas de garantir à coup sûr une inactivation totale.

a) Contrôle de la stérilité

- sur milieu aérobie,
- sur milieu anaérobie
- sur milieu. Sabouraud.

b) Contrôle de l'absence de réaction locale anormale

Ceci est important pour les vaccins à adjuvant huileux et saponinés.

c) Dispositions particulières

Exemple vaccin antibrucellique : non agglutinogène. Vérifier cette qualité.

.../...

2°) Les caractères d'innocuité des vaccins vivants

a) Pathogénicité résiduelle

Le contrôle de la pathogénicité est toujours difficile et ne satisfait pas entièrement l'esprit ; on ne peut pas oublier la possibilité de l'acquisition d'une nouvelle pathogénicité par sélection d'un mutant plus pathogène.

Cette acquisition a peut-être démontrée par passages sur "espèces non cibles"; une souche ERA par passage sur le rat musqué est devenue pathogène pour un renard.

On a pu montrer aussi que la souche atténuée Flury HEP après passages sur une lignée de BHK 21 a regagné une pathogénicité pour les souris adultes de laboratoire.

Cela implique comme pour l'immunogénicité, un contrôle très strict des passages, un respect des conditions de cultures, un respect du mode d'emploi (uniquement espèces ou races "cibles").

Exemples

Charbon bactéridien

- Souche C5 contrôle de la virulence sur cobayes et lapins - vaccination unique des bovins, ovins et' caprins
- Souche sterne - culture en sérum et sous $CO_2$.

Péripneumonie bovine

- Souche T1 44ème passage : utiliser cette souche uniquement chez te zébu. Inoculation à la queue.
- Souche T1 SR 47ème passage : peut 'être utilisée chez le zébu en S/C pas chez les taurins et les métis dans certaines régions.,
- Souche KH3J 92ème passage peut être utilisée pour toutes les races bovines.

Signalons que la pathogénicité résiduelle peut n'apparaître qu'après un très grand nombre de vaccinations : exemple : les souches avianisées, utilisées dans l'Est africain qui ont occasionné des formes pulmonaires de péripneumonie bovine, formes transmissibles d'animal à animal.

.../...

Rage

- Souche Flury LEP réservée à la vaccination du chien.

Newcastle

Distinction entre les souches mésogènes et lentogènes. Pour certaines souches dont la souche LASOTA, la d'iffusion est admise.

Peste bovine

Souche semble-t-ii fixée, apathogène pour tous les bovidés, ne diffuse pas (test de non diffusion nécessaire dans le contrôle du vaccin). Pourtant, certains pays ont émis des objections à l'importation des bovins vaccinés avec la souche atténuée de PLOWRIGHT et FERRIS.

b) Contrôle de l'identité et de la pureté du vaccin

Compléter les tests précédents par :

. séroneutralisation complète (absence de contaminants) ;

. cultures - identification de la souche vaccinale. Recherche de contaminants éventuels

. étude des marqueurs : exemple : streptomycine - résistance de la souche T1.

c) Innocuité proprement dite

- Innocuité pour les "espèces cibles"

- Innocuité secondaire :

  sur espèces non sensibles par la recherche des contaminants
  . toxiques, viraux, bactériens

  . recherche des effets secondaires : formation d'agglutinines (exemple : vaccin 9 R contre la typhose).

Pour,, les vaccins vivants ou inactivés, il est des effets "toxiques" contre lesquels nous n'avons guère de possibilité de lutter mais que nous signalons.

../....

- Hypersensibilité de type immédiat - provoqué par l'antigène lui-même : antigènes bactériens : Brucella, Bordetella, Pasteurella . . . antigènes viraux.

Les accidents de gestation chez les truies vaccinées, contaminées par le virus d'Aujesky sont une manifestation d'hypersensibilité immédiate.

- Phénomène d'Arthus : la Kératite post-vaccinale chez le chien contaminé immunisé à l'aide du vaccin de la maladie de Rubarth (Adénovirus canin type I).

- Hypersensibilité retardée, causée par des protéines virales.

Signalons enfin des accidents comme celui-ci qui mettent en cause l'utilisation des vaccins vivants. C'est ainsi qu'il a été dit qu'un veau contaminé in utero par le virus de la maladie des muqueuses est devenu immunotolérant à ce virus ; vacciné ensuite lorsqu'il a éliminé l'immunité maternel le il ne pourra éviter de présenter une maladie des muqueuses provoquée par la souche vaccinale à pouvoir pathogène résiduel très faible.

## III - TEST DE PUISSANCE DES VACCINS

Les contrôles d'activité seront :

A - Test d'immunité sur l'espèce cible : exemple : vaccin Flury LEP ; sur le chien.

B - Test d'immunité sur les espèces non cibles : dans le cas où il aura été possible de montrer une bonne corrélation entre les deux tests.

C - Par titrage des antigènes.

D - Par contrôle des anticorps sur les animaux vaccinés.

E - Divers contrôles

Tous d'abord signalons que lorsque l'on fait les tests d'activité, il faut que le mode d'emploi soit bien respecté.

. . /. . .

1°) Voie d'inoculation du vaccin

- Scarification : variole aviaire
- Intradermique : certains vaccins contre le charbon bactéridien
- Sous-cutanée : la plupart des vaccins
- Intra-musculaire : Souche Flury LEP
- Nasale : Newcastle
- Orale : Newcastle
- Oculaire : Souche B 19.

Le respect de la voie d'inoculation est nécessaire pour que l'immunité s'établisse ; d'autre part, la voie d'inoculation peut avoir une influence sur les nuisances secondaires exemple : par voie oculaire la souche B 19 n'occasionne pas la formation d'agglutinines.

2°) Le mode de conservation

- 20°C + 4°C.

Exemple un vaccin gel alumine ne peut être congelé.

3°) Les "espèces cibles" : chien pour la souche Flury LEP. Sinon danger de, transmettre la maladie.

4°) Le moment de la vaccination

- Problème des anticorps maternels
- Santé de l'animal, etc., .

A - Test d'immunité sur les espèces cibles

La chose est simple quand l'affection est automatiquement provoquée par l'inoculation de l'agent causal. Ce n'est pas toujours le cas : Salm Salmonelloses aviaires - Péripneumonie bovine. Ainsi :

a) Les conditions d'épreuve devront être bien définies. Exemples :

- Inoculation

Intradermique : Clavelée
Sous-cutanée : Charbon bactéridien - Peste bovine
Intramusculaire : Rage - Charbon symptomatique
Intradermolingual e : Fièvre aphteuse,

../...

- Contact

On infectera des animaux :

- oralement avec des artifices : Salmonellose
- par intubation endobronchiale (broyats de poumons, lymphe péripneumonique, bouillon) : Péripneumonie bovine.

Ces animaux seront mis en contact avec des animaux vaccinés.

b) La dose d'épreuve doit être aussi définie

Pour tous les vaccins, les normes internationales n'ont pas été définies. Exemples :

- Charbon bactéridien : 'norme définie) : 1 000 DLM pour les ovins
- Charbon symptomatique (norme non définie).

Pour certains pays, envi ron 10 DLM, souche entretenue en hémoculture (Debré-Zeit).

- Peste bovine : 10 000 doses infectieuses bovines.

c) La qualité de la souche d'épreuve peut être précisée

- Rage - Virus d'épreuve standard CVS
- Newcastle - avant d'être utilisée, une souche d'épreuve doit être titrée sur poulets pour déterminer la dose léthale 50. Toute souche d'épreuve doit avoir une dose léthale 50 poulets dont le titre sur oeuf est inférieur à $10^3$.

d) Date dé l'épreuve après la vaccinai-ion

Ceci permettra de déterminer la durée et la précocité de l'immunité.

e) Les conditions de lecture doivent être précisées

Survie 100 %. Pourcentage de survie. Pourcentage de contamination. Comparaison avec les témoins.

B - Test d'immunité sur les espèces autres que l'espèce cible

Les tests d'immunité peuvent être effectués sur d'autres espèces que les espèces cibles quand il a été possible de déceler une bonne corrélation entre les deux tests. C'est le cas :

- de la rage : test d'immunité effectué sur sauris cobayes

  Les conditions, la date de vaccination, la date de l'épreuve, la dose de l'épreuve, les voies d'inoculation, les conditions de lecture, sont précisés (voir la rage : technique de- laboratoire OMS)

- du charbon bactéridien : test sur cobaye, dose d'épreuve 200 DLM. Souche Pasteur II (17 J B).

C - Titrage des antigènes

1) Vaccins vivants : pour les vaccins vivants, il est possible d'avoir une bonne idée de leur valeur par titrage.

   . Sur cellules : exemple : peste bovine au moins $10^{2,5}$ $DCT_{50}$ par dose vaccinale.

   . Sur oeufs : exemple: Newcastle chaque dose vaccinale doit avoir, sur oeuf, un titre de $10^7$ DI/50.

   . Sur souris : exemple : titrage du vaccin Flury LEP par voie intracérébrale.

   . Sur milieux de culture

   Charbon bactéridien au moins $10^7$ spores (souche sterne) par dose vaccinale bovine.

   Péripneumonie bovine. Souche T1 au moins $10^7$ germes par dose vaccinale.

2) Vaccins inactivés

Titrage de l'antigène : vaccin contre le fièvre aphteuse (au cours de la fabrication).

   . Vaccin contre les pasteurelloses : au moins 20 mg de bactéries sèches par dose vaccinale.

   . Titrage des anatoxines par floculation - Vaccin contre le tétanos.

D - Titrage des anticorps

Il y a parfois corrélation entre la présence de certains anticorps et le degré d'immunité.

Exemple : Peste bovine : test de séroneutralisation de Plowright et Ferris
Newcastle : test d'inhibition de l'hémagglutination
Rage : séroneutralisation sur souris = réduction du nombre de plages.

Actuellement, on espère que le test ELISA pourra rendre de grands services dans l'estimation du taux d'immunité des troupeaux en ce qui concerne la fièvre aphteuse et peut-être la peste bovine.

E - Contrôles divers

Parmi les contrôle divers pouvant être faits concernant l'activité des vaccins, on peut citer :

- le pH,
- l'humidité résiduelle pour les vaccins iyophilisés,
- le vide pour ces mêmes vaccins, si l'azote n'a pas été utilisé pour le remplissage,
- la stabilité des adjuvants. Exemple : vaccin huileux contre le Newcastle, la fièvre aphteuse,

CONCLUSION

Nous avons, nous l'espérons, montré la nécessité de vaccins de mieux en mieux définis. Nous limiterons ainsi les effets secondaires. Nous pouvons espérer pouvoir créer des vaccins de plus en plus spécifiques avec les sous-unités antigéniques préparées peut-être au moyen du génie génétique. Ainsi les pro-l-bines étrangères éliminées, on peut espérer pouvoir instituer des associations antigéniques plus nombreuses. La seule difficulté résidera peut-être au niveau de l'adjuvant qui sera nécessaire pour induire une bonne immunité, ces sous-unités antigéniques étant plus spécifiques mais peut être moins immunogéniques .

# B I B L I O G R A P H I E

- PLOMMET (M.) - Les vaccins, principe, contrôle d'activité, applications aux infections abortives.
GTV 80 - 3 - t? - (8).

- HOWARD (L.), BACHRACH (Ph D) - Recombinant DNA technology for the preparation of subunit vaccines (1982)
JAVMA 8, (10) : 992-998.

- MOREAU (Y.), BOUQUET (J.F.), ?ERRE (J.) - Oeufs SPF et contrôles sviaires.
Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. Comp., 1979, 81 (3) : 183-187.

- STONE (H.D.), BURGH (M.) et Col l. - Préparation of Inactivated oil emulsion vaccins with avian, viral and mycoplasma antigens
Avian diseases, 1973, 22, 4.

- CESSI (D.), NARDELLI (L.) - Vaccination againt Newcastle disease : efficacy of an oit emulsion vaccine.
Avian pathology, 1974, 3, 4 : 247-258.

- TERRE (J.) - Essai de classification des incidents post-vaccinaux.
21è Congrès Mondial Vétérinaire - MOSCOU 1 - 7 juillet 1979.

- VIIIème Conférence de la commission régionale de l'OIE pour l'Europe - HAMBOURG 4 - 7 jui l let 1978.

- Animal Rabies - National Centre of studies ou Rabies Malzeville et Who.
3 - 5 juin 1982 - NANCY (France).

- O.I.E. - Fièvre aphteuse : 14 - 17 juillet 1982.

- Rapport FAO - Commission européenne pour le contrôle de la fièvre aphteuse.
26 - 28 septembre 1969
22 - 24 octobre 1971 - Tubingen RFA
23 - 26 septembre 1975 - Brescia - Italy.